ÜBER DIE CHOLSÄURE UND ÜBER DAS KRÖTENGIFT

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT (II. SEKTION) DER KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANSUNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT IM DEZEMBER 1913 VON

FRIEDRICH JOSEF WEIL AUS PRAG

ACAD. MED. BAT. BIBL.

DRUCK VON CARL AUG. SEYFRIED & COMP. (C. SCHNELL), MÜNCHEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548312_0179

Meiner Mutter.

Vorwort.

Die vorliegende Arbeit wurde im chemischen Laboratorium der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu München ausgeführt. Die Ergebnisse sind zum größten Teil bereits veröffentlicht worden[1]).

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. Heinrich Wieland,

der die Anregung zu dieser Arbeit gab, sage ich für die freundliche und lehrreiche Leitung meinen aufrichtigen Dank.

Ferner danke ich ergebenst

Seiner Exzellenz Herrn Geheimrat Prof. Dr. Adolf Ritter von Baeyer

für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse.

Der Verfasser.

---

[1]) Heinrich Wieland und Friedrich Josef Weil: Untersuchungen über die Cholsäure H. 80,287 (1912).

Heinrich Wieland und Friedrich Josef Weil: Über das Krötengift B. 46, 3315 (1913).

Inhaltsübersicht.

I. Theoretischer Teil.

Seite

Die Chemie der Cholsäure 13

Die Wasserabspaltung aus dem Cholsäuremolekül durch Destillation 16

Nomenklatur 18
Gewinnung der Cholsäure 18
Die Cholatrienkarbonsäure 19

Hydrierungen der Cholatrienkarbonsäure

Die Choladienkarbonsäure 20
Die Cholankarbonsäure 20

Abbau der Cholatrienkarbonsäure 21

Die Chemie der Krötenhaut und die Darstellung kristallisierten Bufotalins 23

Die Wasserabspaltung aus dem Bufotalinmolekül durch konz. Salzsäure und der Nachweis von zwei alkoholischen Hydroxylgruppen

Bufotalien und Bufotalan 24
Diacetylbufotalinäther und Acetobufotalien 25

Die Aufspaltung des Laktons

Bufotalsäure und Bufotaliensäure 27

Die chemische Verwandtschaft zwischen Cholsäure und Bufotalin

Farbreaktionen 27
Anhydrisierungsprodukte 29

II. Experimenteller Teil.

Seite

Darstellung der Cholsäure

Sommerverfahren 33
Winterverfahren 34

Destillation der Cholsäure 35

Destillat und Sublimat 37
Cholatrienkarbonsäure 38

Reduktionen der Cholatrienkarbonsäure

Choladienkarbonsäure 39
Cholankarbonsäure 40

Oxydationen der Cholatrienkarbonsäure 42

Darstellung des kristallisierten Bufotalins.

Die Liebermannsche Farbreaktion 45
Zwei Methoden der Bufotalindarstellung 46
Bufotalein 47
Eigenschaften des Bufotalins 48

Derivate des Bufotalins.

Bufotalsäure und Bufotaliensäure 49
Bufotalien, Bufotaliensäure und Acetobufotalien 50
Diacetylbufotalinäther und Acetobufotalien 51

Bei Literaturangaben werden die von der Redaktion der „Berichte" vorgeschlagenen Titelabkürzungen verwendet.

Theoretischer Teil.

Die Resultate der Cholsäure-Chemie.

Justus von Liebig hat im Jahre 1843 den damaligen Stand der Gallenchemie fixiert[1]) und in seinem Gießener Laboratorium eine Reihe von Schülerarbeiten angeregt[2]), deren bedeutendste die von Strecker[3]) über die Ochsengalle geworden sind.

Gestützt auf das von Demarçay[4]) beobachtete Verhalten der Galle gegen Alkalien und gefördert durch die gleichzeitig gemachten Untersuchungen Redtenbachers über das Taurin[5]) erkannte Strecker als erster, daß die beiden wichtigsten Gallensäuren der Rindergalle, die Glykocholsäure und die Taurocholsäure, gepaarte Säuren sind, die durch hydrolytische Agentien je ein Eiweißderivat (Glykokoll-Taurin) und als anderen Paarling die gleiche N-freie Säure, die Cholsäure, ergeben.

$C_{23}H_{39}O_3\,CO\text{-}NHCH_2COOH + H_2O = C_{23}H_{39}O_3COOH + NH_2CH_2COOH$

Glykocholsäure — Cholsäure — Glykokoll

$C_{23}H_{39}O_3\,CO\text{-}NHCH_2CH_2SO_3H + H_2O = C_{23}H_{39}O_3COOH + NH_2CH_2CH_2SO_3H$

Taurocholsäure — Cholsäure — Taurin

Vor einigen Jahren[6]) haben Bondi und Müller das Cholsäureazid $C_{23}H_{39}O_3CON_3$ nach der Methode von Curtius erhalten, dieses in alkalischer Lösung mit Glykokoll oder Taurin umgesetzt und so die Glykocholsäure und die Taurocholsäure aus den Bestandteilen synthetisiert.

---

[1]) A. 47, 1 (1843).
[2]) J. Volhard: J. v. Liebig 2, 162.
[3]) A. 65, 1, 130 (1848); A. 67, 1, (1848).
[4]) A. 27, 274 (1838).
[5]) A. 57, 170 (1846); A. 65, 37 (1848).
[6]) H. 47, 499 (1906).

Strecker stellte die Formel der Cholsäure ($C_{24}H_{40}O_5$) auf und geriet darüber in eine heftige Polemik mit Mulder, dem Gegner Liebigs[7]). Trotzdem die Arbeiten Hoppe Seylers[8]) die Streckersche Formel bestätigten, wurde der Streit 40 Jahre später zwischen Mylius[9]) und Latschinoff[10]) erneuert. Heute ist die Strecker-Mylius'sche Formel $C_{24}H_{40}O_5$ allgemein anerkannt.

Mylius und Latschinoff haben die Chemie der Gallensäuren nach einer anderen Richtung hin erweitert. Während Strecker annahm, daß die Cholsäure die einzige typische Gallensäure des Rindes sei, hat Latschinoff[11]) eine neue Säure, die Choleinsäure, Mylius[12]) wenig später die Desoxycholsäure entdeckt, beides Säuren von der Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_4$.

Der Weg des oxydativen Abbaues der Cholsäure war zu dieser Zeit schon mit einem gewissen Erfolg beschritten worden.

Durch Oxydation der Cholsäure mit CrO_3 hatte Hammarsten[13]) die einbasische Dehydrocholsäure, zur gleichen Zeit Clève durch Oxydation mit $KMnO_4$ in alkalischer Lösung bei Zimmertemperatur die Biliansäure[14]) erhalten, die als dreibasische Diketosäure gilt. Mylius stellte nun ein Trioxim der Dehydrocholsäure dar, wies zwei von den drei OH-Gruppen der Cholsäure durch Acetylierung nach und stellte für die drei Säuren die folgenden Formeln auf[15]), die heute noch Geltung haben:

$$C_{24}H_{40}O_5 = (C_{20}H_{31}) \begin{cases} C\ H\ OH \\ C\ H_2OH \\ C\ H_2OH \\ C\ OOH \end{cases}$$

Cholsäure

---

[7]) A. 70, 154 (1849); J. 1847—48, 907.
[8]) J. pr. (I) 89; 83, 257, 281 (1863).
[9]) B. 19, 2000 (1886); B. 20, 1968 (1887).
[10]) B. 20, 1043, 3274 (1887).
[11]) B. 18, 3039 (1885).
[12]) B. 19, 375 (1886).
[13]) B. 14, 71 (1881).
[14]) Bl. 35, 373 (1881), daneben entsteht auch eine Isobiliansäure.
[15]) B. 19, 2008 (1886).

$$C_{24}H_{34}O_5 = (C_{20}H_{31}) \begin{cases} CO \\ CHO \\ CHO \\ COOH \end{cases}$$

Dehydrocholsäure

$$C_{24}H_{34}O_8 = (C_{19}H_{31}) \begin{cases} CO \\ CO \\ COOH \\ COOH \\ COOH \end{cases}$$

Biliansäure

Das Kohlenstoffskelett der Cholsäure ist also in der Biliansäure noch erhalten. Während aber die Cholsäure und die Dehydrocholsäure auf einen Kohlenwasserstoff $C_{24}H_{42}$ zurückgehen, besitzt der Grundkohlenwasserstoff der Biliansäure, $C_{24}H_{44}$, zwei H-Atome mehr.[16])

Man hat versucht, die Cholsäuren mit einer „versteckten" Doppelbindung auszustatten und stützte sich auf das Resultat der Ozonisierung durch Langheld.[17]) Doch scheint dieses bei einem so sauerstoffreichen Körper, wie die Cholsäure, nicht eindeutig genug zu sein, um zu einer solchen Annahme zu berechtigen.[18])

Tatsächlich führte auch im Gange der vorliegenden Untersuchung die Hydrierung der Cholsäure mit Palladium in Eisessiglösung, dem kräftigsten Reduktionsverfahren für alle Arten von Doppelbindungen, bei höherer Temperatur (80°) zu keinem Resultat. Die reine Cholsäure vom Schmelzpunkt 198° wurde wieder erhalten. —

Von verschiedenen Chemikern wurde versucht, das Kohlenstoffskelett durch energischere Oxydationsmittel zu zertrümmern. Neben der großen Zahl amorpher Oxydationsprodukte, die in der Literatur beschrieben wurden, finden sich auch einige wohldefinierte kristallisierte Substanzen, die im folgenden kurz aufgezählt werden sollen:

Durch Oxydation der Biliansäure mit siedender $KMnO_4$-Lösung hat Lassar-Cohn[19]) im hiesigen Laboratorium die Ciliansäure

---

[16]) In der Reihe $C_{24}H_{40}O_4$ zeigt sich bei der Cholansäure $C_{24}H_{36}O_7$ das gleiche.
[17]) B. 41, 1023 (1908).
[18]) Auch die Ozonisierung des Cholesterins verläuft anormal.
[19]) B. 32, 684 (1899).

dargestellt. Pregl[20]) gibt ihr die Formel $C_{20}H_{28}O_8$ und hält sie für eine dreibasische Diketosäure. In jüngster Zeit hat sich Schenck[21]) mit der Ciliansäure beschäftigt und hat sie als eine vierbasische Diketosäure des noch in seiner Gänze erhaltenen Kohlenstoffskeletts aufgefaßt.

Ein kleineres Bruchstück beschreibt Letsche[22]). Er erhielt durch Oxydation der Cholsäure mit Salpeterschwefelsäure eine fünfbasische Säure, $C_{19}H_{28}O_{10}$.

Noch kleiner ist das Molekül der Choloidansäure, die Pregl[23]) aus Cholsäure und Biliansäuren, aber auch aus Choleinsäure und Desoxylcholsäure erhalten hat. Diese vierbasische Säure von der Zusammenstellung $C_{18}H_{28}O_8$ stellt ein den drei „spezifischen" Gallensäuren gemeinsames Spaltungsstück dar. Pregl identifiziert es mit der Cholekampfersäure Latschinoffs und Panzers und mit einer Reihe von Oxydationsprodukten, die in älteren Arbeiten beschrieben werden[24]).

Irgend ein größeres Bruchstück, das man mit einer Substanz von bekannter Konstitution identifizieren könnte, ist bisher in einwandfreier Weise aus der Cholsäure nicht erhalten worden.

Die Frage nach ihrer Konstitution ist noch vollständig ungelöst.

Der Kohlenwasserstoff, der der Cholsäure zugrunde liegt, $C_{24}H_{42}$, hat 8 H weniger als der aliphatische der gleichen Kohlenstoffzahl. Man vermutet deshalb wohl mit Recht das Vorhandensein von kondensierten hydrierten Ringen im Molekül.

Die Destillation der Cholsäure.

War nun der Weg der direkten Oxydation der Cholsäure für die Konstitutionsermittelung nicht sonderlich erfolgreich, so lag es nahe,

---

[20]) M. 24, 57 (1903).
[21]) H. 88, 59 (1913).
[22]) H. 61, 215 (1909).
[23]) H. 56, 165 (1910).
[24]) H. 65, 161 (1910).

die alkoholischen Hydroxylgruppen zur Anhydrierung des Moleküls zu verwenden und die dadurch voraussichtlich entstehenden Doppelbindungen als bequeme Einfallspforten in den an sich außerordentlich widerstandsfähigen Kohlenstoffkern des Moleküls zu benützen. An Versuchen in dieser Richtung hat es auch nicht gefehlt. Die Einwirkung starker Säuren führte stets zu den schon von Berzelius beschriebenen amorphen Dyslysinen.

Und auch aus den Produkten der trockenen Destillation konnte trotz der großen Zahl der Bearbeiter[25]) bisher nie ein kristallisierter Stoff erhalten werden. Das Destillationsprodukt wird übereinstimmend als Harz beschrieben, das neben Wasser entsteht. Kohlensäureabspaltung findet, wie Schotten[26]) gezeigt hat, nicht statt. Der Grund dafür, daß aus diesem Harz ein kristallisiertes Produkt nicht isoliert wurde, liegt wohl in der allen Körpern der Cholsäurereihe eigentümlichen äußerst geringen Kristallisationstendenz, die schon durch kleine Verunreinigungen auf ein Minimum reduziert wird.

Es gelang nun, durch vorsichtige Destillation reiner Cholsäure im Vakuum von 10 mm unter Vermeidung jeder Überhitzung bei einer Temperatur von etwa 300° ein hellgelb gefärbtes, bei Zimmertemperatur sprödes, nicht fluoreszierendes Harz fast quantitativ als Destillat zu erhalten[27]), das in wenig Alkohol gelöst, in der Kälte zu einem dichten Kristallbrei erstarrt, der etwa 30% der destillierten Cholsäure ausmacht. Auf diese Weise konnte die gesuchte Säure $C_{24}H_{36}O_2$ isoliert werden, die drei Doppelbindungen hat. Sie erschien deshalb zum oxydativen Abbau besonders geeignet. Leider haben die in dieser Richtung unternommenen zahlreichen Versuche bisher keinen durchgreifenden Erfolg gehabt. Es konnte vorläufig nur festgestellt werden, daß zu Beginn des oxydativen Abbaus Essigsäure aus dem Molekül abgespalten

---

[25]) Strecker A. 67,29 (1848).
Baumstark B. 6, 1187 (1873).
Schotten H. 10, 197 (1886).
Mylius B. 19, 378 (1886).
Piettre C. r. 148, 1780 (1909).
v. Fürth und Lenk Bio. Z. 26, 406 (1910).

[26]) H. 10, 175 (1886).

[27]) Außerdem entsteht ein weißes Sublimat.

wird[28]). Durch Hydrierung mit Palladium wurde die dreifach ungesättigte Säure zur zweifach ungesättigten $C_{24}H_{36}O_2$ und schließlich zur gesättigten Säure $C_{24}H_{40}O_2$ reduziert.

Nomenklatur. Diese so erhaltene gesättigte Säure $C_{24}H_{40}O_2$ ist die Stammsäure der Cholsäurereihe. Da nun drei zusammengehörige Säuren dieser Reihe dargestellt waren, schien es zweckmäßig, die große Zahl von Trivialnamen, die die Cholsäurechemie schmücken, nicht weiter zu vergrößern, sondern eine einheitliche Benennung zu versuchen. Nach der Genfer Nomenklatur gebührt dem der Cholsäure zugrunde liegenden hypothetischen Kohlenwasserstoff $C_{24}H_{42}$ die Benennung Cholan. Da aber der Name Cholansäure seit Tappeiner[29]) für eine Substanz verwendet wird, die später[30]) als ein Oxydationsprodukt der Choleinsäure erkannt wurde, konnte er der Säure $C_{24}H_{40}O_2$ nicht beigelegt werden. Es wurde deshalb vorgezogen, den Kohlenwasserstoff $C_{23}H_{40}$ als Cholan zu bezeichnen und das Kohlenstoffatom, das in der Cholsäure die Carboxylgruppe trägt, bei der Nomenklatur nicht zu berücksichtigen. So ergeben sich die Bezeichnungen:

für Cholan $C_{23}H_{40}$,

für die Stammsäure $C_{23}H_{39}COOH$ = Cholankarbonsäure,

für die beiden ungesättigten Säuren:

$C_{23}H_{35}COOH$ = Choladienkarbonsäure,
$C_{23}H_{33}COOH$ = Cholatrienkarbonsäure,

und für die Cholsäure

$C_{23}H_{36}(OH)_3COOH$ = Trioxycholankarbonsäure.

Darstellung der Cholsäure.

Die Zusammensetzung der Rindergalle ändert sich mit der Art der Fütterung und daher auch mit der Jahreszeit. Die Gewinnung

---

[28]) Siehe S. 21.
[29]) A. 194, 231 (1878).
[30]) Latschinoff B. 18, 3040 (1885).

der Cholsäure aus Sommergalle bereitet stets[31]) größere Schwierigkeiten. Im Sommer 1911 versagten alle bis dahin bekannten Verfahren. Es mußte deshalb die Cholsäure nach einer neuen Methode gewonnen werden. Sie beruht darauf, daß man die in Äther-Alkohol gelösten Rohsäuren mit Wasser fraktioniert ausschüttelt. Bei der Verarbeitung von Wintergalle führte ein sehr vereinfachter Weg zum Ziele, da die durch Kochen der Galle mit überschüssigem Alkali erhaltenen Rohsäuren unter Alkohol bereits kristallisierten.

Die Cholatrienkarbonsäure $C_{24}H_{34}O_2$

kristallisiert in schmalen Tafeln, die sich zu Büscheln gruppieren. Die Resultate der Verbrennung, Titration und Molekulargewichtsbestimmung bestätigten die für sie angenommene Formel. Fein zerrieben ist sie in $\frac{n}{10}$ Kalilauge sehr leicht löslich. Sie dreht das Licht nach links, während die Cholsäure nach rechts dreht. Sie ist geschmacklos, während die Cholsäure den bekannten stark bitteren Geschmack besitzt. In alkoholischer Lösung tritt mit Brom momentan Entfärbung ein, nach kurzer Zeit ($^1/_4$ Minute) wird die Lösung goldgelb und entwickelt BrH-Dämpfe. Überschichtet man die trockene Säure mit konzentrierter Schwefelsäure, so löst sie sich mit orangegelber Farbe und zeigt nach einigem Stehen grüne Fluoreszenz[32]).

Löst man eine Spur der reinen Säure in Essigsäureanhydrid und fügt einen Tropfen einer gekühlten Mischung von Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure hinzu, so tritt eine Farbreaktion auf, die der von Liebermann[33]) bei Cholesterin beobachteten analog ist. Auch hier stellt sich ein Farbenwechsel von gelb über rot, blau und violett nach grün ein. Es ist dies ein neuer Fingerzeig für die von verschiedenen Forschern[34]) vermuteten Verwandtschaft der Gallensäuren

---

[31]) Pregl M. 24, 33 (1903).

[32]) Cholsäure zeigt, wie schon lange bekannt, in ganz ähnlicher Weise gelbrote Färbung und intensiv grüne Fluoreszenz.

[33]) B. 18, 1804 (1885), Burchard B. 23, R. 752 (1890).

[34]) Windaus Ar. 246, 147 (1908).

und des Cholesterins. Die Liebermannsche Reaktion wird weiter unten noch besprochen werden.

Die Choladienkarbonsäure $C_{24}H_{36}O_2$.

Die Cholatrienkarbonsäure wurde in wenig Alkohol gelöst. Diese Lösung wurde schwach alkalisch gemacht und mit Wasser verdünnt. Durch Hydrierung mit kolloidalem Platin[35]) konnte die zweifach ungesättigte Säure erhalten werden[36]). Sie gibt mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure eine prachtvoll blutrote Färbung, zeigt sich also hierin von der dreifach ungesättigten verschieden. Die Reaktionen mit konzentrierter Schwefelsäure und mit Brom dagegen sind bei beiden Säuren gleich. Auch sie ist geschmacklos und dreht das Licht nach links. Sie kann in einem spätern Stadium der Konstitutionsermittlung von Bedeutung werden.

Die Cholankarbonsäure $C_{24}H_{40}O_2$.

Durch Reduktion einer Suspension von Cholatrienkarbonsäure in Eisessig mit Palladiummoor und Wasserstoff, oder rascher durch die gleiche Art der Reduktion einer heißen gesättigten Lösung erhält man die Cholankarbonsäure. Reinigt man das Produkt der Reduktion noch dadurch, daß man seine kalte verdünnte Eisessiglösung mit einigen Tropfen $KMnO_4$-Lösung stabilisiert, so erhält man einen Körper, der in alkalischer und alkoholischer Lösung gegen $KMnO_4$ ganz beständig ist und selbst in Eisessiglösung der Einwirkung lange widersteht. Alle bei den ungesättigten Säuren beobachteten Farbreaktionen bleiben hier aus: Weder mit Brom noch mit konzentrierter Schwefelsäure, noch

---

[35]) Loew B, 23, 289 (1890).

[36]) Bei einigen Versuchen ging die Reduktion bis zur Cholankarbonsäure weiter, ohne daß der Grund hiefür bisher ermittelt werden konnte.

mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure tritt eine Färbung auf. Die Säure zeigt keinen Geschmack. Sie dreht, wie auch die Cholsäure, nach rechts, während die ungesättigten Säuren nach links drehen.

Cholsäure +→ Cholatrienkarbonsäure —→ Cholankarbonsäure +. Bei der Hydrierung des Cholesterins[37]) tritt die gleiche Drehungsänderung auf[38]). Senkowski[39]) und Pregl[40]) haben versucht, durch Reduktion der Cholsäure mit Jodwasserstoff und rotem Phosphor, die Säure $C_{24}H_{40}O_2$ zu erhalten. Sie beschreiben amorphe Produkte, denen der Name Cholylsäure-(anhydrid) beigelegt wird.

Der oxydative Abbau

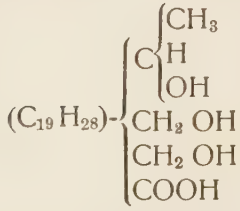
der Cholatrienkarbonsäure ergab bisher nur ein bescheidenes Resultat. Es wurden Oxydationen mit $KMnO_4$, CrO_3, H_2O_2, Br_2, O_2 und Pd, NHO_3, N_2O_3 unter verschiedenen Bedingungen vorgenommen, ohne daß es gelungen wäre, ein kristallisiertes Abbauprodukt in befriedigender Ausbeute zu erhalten. Man darf wohl die geringe Neigung der Cholsäurederivate, aus nicht einheitlichen Lösungen zu kristallisieren, für diesen Mißerfolg mit verantwortlich machen. Es konnte beobachtet werden, daß das erste Oxydationsprodukt eine in Alkalilösung gelbe Säure ist (Ketosäure?), die bei weiterer Oxydation wieder eine farblose Alkalilösung gibt. Als Bruchstück wurde Essigsäure zweifellos festgestellt. Sie entsteht gleich zu Beginn der Oxydation und zwar in einer Menge, die der Abspaltung von einem Molekül Essigsäure pro Cholatrienkarbonsäuremolekül entspricht.

Essigsäure kann im Molekül nur an der Stelle abgespalten werden, wo in der Cholsäure die sekundäre Alkoholgruppe sitzt. Damit

---

[37]) Willstätter und Mayer B. 41, 2199 (1908).
[38]) Vergl. Wienhaus A. 397, 223 (1913).
[39]) M. 19, 2 (1898).
[40]) Pflügers A. 71,303 (1898); 72, 266 (1898).

ist die Stellung eines Kohlenstoffatoms fixiert. Dieses Resultat ermöglicht die Auflösung ihrer Formel in folgender Weise[41]):



Die zahlreichen amorphen Abbauprodukte, die erhalten wurden, sollen nicht beschrieben werden. Es ist vielmehr in Aussicht genommen, den Abbau der Cholatrienkarbonsäure auf Grund der gewonnenen Erfahrungen neuerdings mit größern Mitteln systematisch zu bearbeiten. Der Verbrauch des gesamten zur Verfügung stehenden Materials gestattete vorläufig keine weiteren Versuche dieser Art. Die Untersuchung wurde vielmehr auf ein anderes, allem Anscheine nach nahe verwandtes Gebiet ausgedehnt. Schon durch frühere Beobachtungen waren Beziehungen zwischen dem Cholesterin und dem Giftstoffe der Kröte wahrscheinlich geworden[42]). Mit der Erforschung der Cholatrienkarbonsäure spielen nun diese Beziehungen, die sich zuerst in der Gemeinsamkeit einer auffallenden Farbreaktion äußerten, auch in die Gruppe der Gallensäuren hinein. Es hat sich gezeigt, daß dieses nur äußerliche Merkzeichen für eine Verwandtschaft, über das an anderer Stelle dieser Arbeit noch berichtet wird, in der Tat durch weitgehende chemische Parallelität zwischen Bufotalin und Cholsäure zu vertieftem Ausdruck kommt.

---

[41]) Die Existenz der zwei primären Alkoholgruppen steht noch nicht unbedingt fest. Mylius B. 19, 2008 (1886).

[42]) Nach Privatmitteilung von Herrn Professor Wieland.

Das Bufotalin.

Die Kröte ist von alters her ein märchenumwobenes Tier. Es werden ihr geheime Kräfte und ihrem Leib wunderbare Heilwirkungen zugeschrieben. Sie bildet, ähnlich wie die Schlangen, einen wichtigen Bestandteil der Hexen-Pharmakopöe. Ob ihr groteskes Äußere oder eine tatsächlich erkannte Wirksamkeit ihr diese Stellung verschafft haben, ist ungewiß. In Asien aber gilt ein aus Krötenhäuten gewonnenes Produkt, das in Japan[43]) Hikigaëru, in China[44]) Senso heißt, seit den ältesten Zeiten als kräftiges Herzgift und findet als solches heute noch Verwendung.

Auch schriftlich niedergelegte Beobachtungen über die Giftigkeit der Kröte sind in alten Werken häufig zu finden. Faust[45]) und Abel[46]) zitieren eine ganze Reihe von Beispielen. Die wissenschaftliche Behandlung der Frage setzt verhältnismäßig spät ein. Erst im Jahre 1902 haben gleichzeitig Faust[45]) und Phisalix und Bertrand[47]) das wirksame Prinzip der Krötenhaut (Bufo vulgaris) in amorphem Zustand erhalten, das in seinem physiologischen Effekt dem Digitalin qualitativ gleicht und dieses quantitativ um ein Bedeutendes übertrifft[48]). Darum wurde auch von Faust die dem Worte Digitalin nachgebildete Bezeichnung Bufotalin gewählt.

Vor einiger Zeit hat Wieland[49]) die Bearbeitung dieses Gebietes aufgenommen. Zur Isolierung des amorphen Bufotalins wurden die Häute der mit Chloroform getöteten Kröten einige Wochen in Alkohol gelegt. Diese Lösung wurde darauf zu einem braunen Harz getrocknet. So erhielt man aus je 2000 Kröten[50]) etwa 300 g Rückstand, aus welchem die Hauptmasse des Fettes mit Gasolin entfernt

---

[43]) S. Hirohashi: J. of the Pharmaceutical Soc. of Japan, Dez. 1912.

[44]) Hyashi D. med. Wochenschr. 1911, Nr. 13, S. 624.

[45]) A. Pth. 47, 278 (1902); 49, 1 (1902).

[46]) J. of Pharm. and Exp. Therap. 3, 319 (1912).

[47]) C. r. 135, 46; 49 (1902).

[48]) Außerdem erzeugt das Bufotalin, wie schon Faust mitteilt, Hautekzeme und Nießkrämpfe.

[49]) B. 46, 3315 (1913).

[50]) Im ganzen wurden 20 000 Häute extrahiert.

wurde. Bei der weiteren Behandlung mit Äther bekam man ein dunkel gefärbtes Extrakt, das neben Fett Cholesterin enthielt. Damit war die Ansicht Bertrands[51]), daß das Faustsche Bufonin mit Cholesterin identisch ist, wesentlich gestützt.

Einen weiteren sehr interessanten Bestandteil der Krötenhaut hat Wieland durch Ausschütteln der Ätherlösung mit Soda isolieren können: Es wurde Korksäure — zum ersten Mal im Tierreich — aufgefunden.

Das nach dieser Ätherbehandlung zurückbleibende gelbe amorphe und noch schwach saure Pulver bildete das Ausgangsmaterial für die vorliegende Arbeit.

Durch weitere Behandlung mit Äther konnten Fraktionen erhalten werden, die, über Wasser dem freiwilligen Verdunsten überlassen, das Bufotalin in schönen weißen Kristallen lieferten. Die von Herrn Professor Faust angestellte physiologische Untersuchung bewies, daß damit das wirksame Prinzip der Krötenhaut in reiner kristallisierter Form erhalten worden war. Weiterhin hat sich das zur Darstellung der Cholsäure aus Sommergalle ausgearbeitete Verfahren[52]) der fraktionierten Ausschüttelung einer Äther-Alkohollösung mit Wasser auch hier zur Aufarbeitung des amorphen Produkts und Gewinnung des kristallisierten Körpers vorzüglich bewährt[53]). Das Bufotalin ist ein ungefärbter neutraler Körper, der in deutlichen Säulen kristallisiert und gegen $KMnO_4$ recht beständig ist. Er besitzt die molekulare Zusammensetzung $C_{16}H_{24}O_4$ und dreht das Licht schwach nach rechts.

Die Natur der vier Sauerstoffatome konnte auf folgende Weise festgestellt werden: Durch konzentrierte Salzsäure wurde ein Anhydroprodukt der Zusammensetzung Bufotalin — 2 Wasser = $C_{16}H_{20}O_2$ gewonnen. Es ist ein gelber, in schönen Platten kristallisierender neutraler Körper, der Bufotalien genannt wurde. Er entfärbt $KMnO_4$ sofort und nimmt bei der Hydrierung in alkoholischer Lösung mit Palladium eine 4 H-Atomen entsprechende Menge Gas auf. Das hy-

---

[51]) C. r. 135, 49 (1902).

[52]) Siehe S. 33.

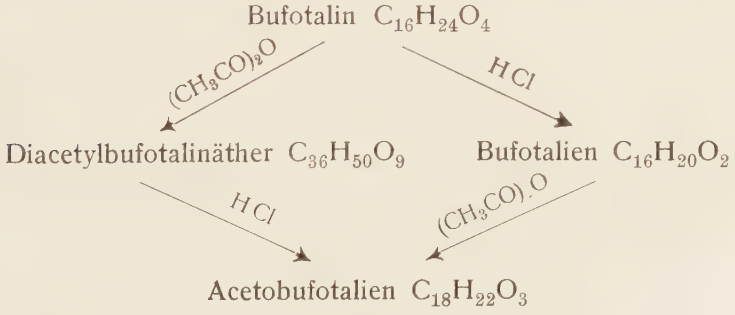
[53]) Dabei konnte aus dem zuerst abgelassenen Wasser noch ein zweiter kristallisierter Körper in geringer Menge isoliert werden, der nach Schmelzpunkt und Farbreaktion vom Bufotalin verschieden ist und Bufotalein genannt wurde. Seine nähere Untersuchung steht noch aus.

drierte Produkt — das Bufotalan — gibt keine Farbreaktion mehr. Es konnte nicht kristallisiert erhalten werden.

Spricht die Bildung des Bufotaliens schon stark für das Vorhandensein von zwei alkoholischen Hydroxylgruppen im Bufotalinmolekül, so wurde diese Ansicht durch Behandlung des Bufotalins mit Essigsäureanhydrid noch gefestigt. Dabei wird die eine OH-Gruppe acetyliert, während die andere mit dem Hydroxyl eines zweiten Moleküls Wasser abspaltet. Der so entstehende Diacetylbufotalinäther, $C_{36}H_{50}O_9$, ist ein in glänzenden weißen Blättchen kristallisierender neutraler Körper von gesättigtem Charakter.

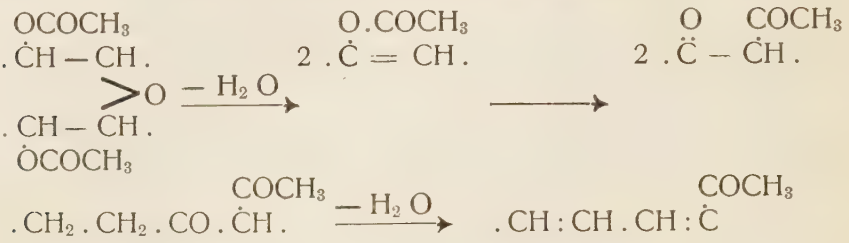
Dieses für die Konstitutionsfrage weniger wichtige Derivat wurde insofern von Interesse, als es gelang, es durch konzentrierte Salzsäure in einen Körper zu verwandeln, dessen Darstellung auch aus Bufotalien und Essigsäureanhydrid glückte. Es war damit vom Bufotalin aus auf zwei unabhängigen Wegen, die sich nur dadurch unterscheiden, daß in einem Falle erst Salzsäure und dann Essigsäureanhydrid, im anderen Falle erst Essigsäureanhydrid und dann Salzsäure in Anwendung kamen, das gleiche Produkt erhalten worden. Es ist ein neutraler, stark ungesättigter Körper, der in schönen gelben Blättchen kristallisiert, die Zusammensetzung $C_{18}H_{22}O_3$ besitzt und Acetobufotalien genannt wurde.

Die Beziehungen zwischen den bisher besprochenen vier kristallisierten Körpern stellen sich also folgendermaßen dar:

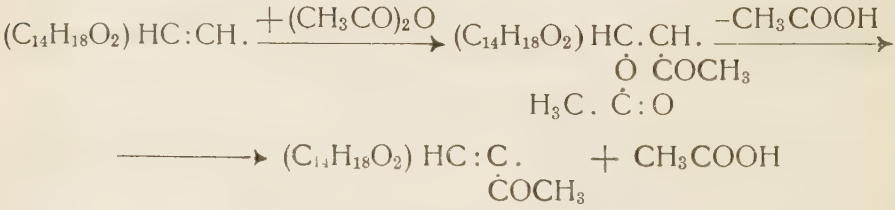


Die Deutung der beiden Reaktionen, die, einmal vom Äther aus, das andere Mal vom Bufotalien aus zum Acetobufotalien führen, gestaltet sich recht schwierig.

Es wird angenommen, daß in dem Falle des Diacetylbufotalinäthers unter Aufrichtung der Doppelbindung eine Wanderung des Carboxylkohlenstoffatoms an das benachbarte Kohlenstoffatom erfolgt; eine Reaktion, wie sie von Claisen öfters beobachtet wurde:



Es würde danach der Brückensauerstoff als Wasser abgespalten werden und das so wieder entstandene einfache Molekül durch Umlagerung in ein gesättigtes Keton übergehen (I), das durch Wasserabspaltung ein doppelt ungesättigtes Monoketon[54]), das Acetobufotalien, bilden würde (II). Der Chemismus der Acetobufotalien-Darstellung aus Bufotalien dagegen wird durch die Annahme gegeben, daß durch Addition eines Moleküls Essigsäureanhydrid an die eine Doppelbindung eine direkte Acetylierung am Kohlenstoff stattfindet und dieses Additionsprodukt dann sekundär wieder ein Molekül Essigsäure abspaltet:



Diese Erklärungen der beiden Acetobufotalienbildungen sollen durch weitere Untersuchungen bestätigt oder berichtigt werden.

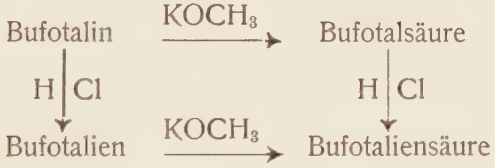
Konnten somit durch Darstellung des Bufotalins und des Diacetyläthers zwei Sauerstoffatome des Bufotalinmoleküls als alkoholische Hydroxylgruppen festgelegt werden, so wurde die Natur der beiden übrigen Sauerstoffatome durch die Beobachtung erkannt, daß alle vier bisher besprochenen neutralen Körper schon durch milde Behandlung

---

[54]) Die Nachbarstellung der Hydroxylgruppen ist noch nicht bewiesen.

mit alkoholischem Kali in Säuren übergehen. Das Bufotalin liefert so die ungesättigte Bufotalsäure, — das Bufotalien die gelbe Bufotaliensäure, — deren Bildung am ungezwungensten durch die Annahme erklärt wird, daß das Bufotalin ein Lakton sei, das zur ungesättigten Säure aufgespalten wird.

Leider konnte weder die Bufotalsäure, noch das aus Bufotalien auf demselben Wege gewonnene gelbe saure Produkt kristallisiert erhalten werden. Die Säuren geben mit konzentrierter Salzsäure eine sehr charakteristische Rotfärbung, die allmählich einen violetten Ton annimmt. Dabei geht die Bufotalsäure in einen gelben amorphen Körper über. Nimmt man diesen Körper und die aus Bufotalien durch Alkali gewonnene Säure auf Grund ihres Verhaltens als identisch an, so ergibt sich folgendes Schema:



Alle bisher dargestellten Körper — Säuren wie Laktone — färben konzentrierte Schwefelsäure rot und geben nach längerem Stehen eine grüne Fluoreszenz. In ähnlicher Weise geben die Cholsäure Gelbfärbung und grüne Fluoreszenz[55]), die ungesättigte Cholatrienkarbonsäure und die Choladienkarbonsäure ebenfalls grün fluoreszierende Lösungen von orangegelber Farbe.

Noch frappanter ist die Ähnlichkeit einer Farbreaktion, die zuerst von Liebermann[56]) beim Cholestol, einem Derivate der Chinovasäure, und später bei einer Anzahl stickstoffreier Substanzen beobachtet wurde, die sämtlich dem Tier- oder Pflanzenreich entstammen und auf Grund von Arbeiten Liebermanns, Vesterbergs, Wallachs[57]) und Windaus'[58]) als chemisch verwandt gelten.

---

[55]) H. 45, 166 (1905).
[56]) B. 18, 1804 (1885).
[57]) Czapek, Biochemie d. Pflanzen I. 166; II. 687 (1905).
Euler, Pflanzenchemie I. 140; II. 220 (1908).
[58]) Ar. 246, 147 (1908).

Hieher gehören hauptsächlich die Harzsäuren, die Phyto- und Cholesterine und die Gallensäuren, die alle den Terpenen nahestehen dürften.

Allerdings stützt sich diese Annahme vorläufig im wesentlichen nur auf eine Reihe von Farbreaktionen, die diesen Stoffen gemeinsam sind. Die charakteristischste ist die ebengenannte Liebermannsche Reaktion: Löst man etwas Substanz in Essigsäureanhydrid und tropft eine gekühlte Mischung von Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure zu, so tritt eine Färbung auf, die von gelb über rot und violett nach blau und von da nach grün geht (häufig wird die Lösung schließlich wieder gelb).

Schon Liebermann hat diese auffallende Reaktion auch beim Cholesterin beobachtet[59]). Später zeigte es sich, daß andere Substanzen aus der Gruppe der Harzsäuren sowie andere Cholesterine und Phytosterine mit dem gleichen Reagens die gleiche typische oder eine wenig davon abweichende Färbung geben. Im Gange der vorliegenden Untersuchung wurde nun in der Cholatrienkarbonsäure ein Körper aus der Klasse der Gallensäuren gefunden, der ebenfalls die Liebermannsche Reaktion zeigt und damit ein neuer Beleg für die Zusammengehörigkeit der Cholsäure und des Cholesterins erbracht. Auch eine Reihe von Körpern bekannter Konstitution wurden auf ihr Verhalten gegen Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure hin geprüft. Es zeigte sich, daß auch das Diphenylbutadien und der Zimtaldehyd die typische Reaktion liefern.

Daß das Bufotalin dieses Farbenspiel in gleicher, nur noch viel brillanterer Weise gibt als Cholesterin, hat Wieland schon an dem amorphen Produkt festgestellt[60]). Es hat sich nun erwiesen, daß auch die anderen dargestellten Laktone der Bufotalingruppe sich ebenso verhalten[61]). Darum scheint das Bufotalin der Cholsäure (Cholatrienkarbonsäure) und dem Cholesterin nahe zu stehen.

Sichere Schlüsse über die chemische Konstitution dürfen und sollen auch auf Grund solcher Farbreaktionen gewiß nicht gezogen werden. Doch haben sie schon oft der chemischen Forschung den Weg gewiesen.

---

[59]) B. 18, 1804 (1885).
[60]) C. 1912 II, 299.
[61]) Die Säuren geben keine typischen Färbungen mehr.

So hat v. Baeyer[62]) auf Grund der Beobachtung Wallachs[63]), daß Sylvestren sich mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure (also mit demselben Reagens, das Liebermann verwendete) intensiv blau färbt[64]), die Konstitution des Carvestrens vorausgesagt, gestützt auf die Tatsache, daß dieses die gleiche blaue Farbe zeigt.

Die Annahme einer chemischen Verwandtschaft zwischen Bufotalin und Cholsäure, die auf Grund der Farbreaktion gemacht worden war, wurde schon durch die bisher erhaltenen Resultate wesentlich gestützt.

Die Cholsäure, eine Trioxykarbonsäure, unterscheidet sich vom Bufotalin, dem Lakton einer Trioxykarbonsäure, durch den Komplex C_8H_{14}, enthält also um eine Ringbindung mehr. Während bei der Cholsäure die Destillation im Vakuum zur Bildung eines Anhydroproduktes geführt hat, wurde dasselbe Ziel beim Bufotalin durch Behandlung mit konzentrierter Salzsäure erreicht. Das so erhaltene verhältnismäßig kleine Moleküle des Bufotaliens erscheint zum oxydativen Abbau besonders geeignet. Soweit bisher festgestellt werden konnte, erhält man mit $KMnO_4$ kristallisierte Abbauprodukte. Es ist zu hoffen, daß es von hier aus gelingen wird, das geheimnisvolle Kohlenstoffringsystem zu ergründen, dem, allem Anscheine nach, in Tier- und Pflanzenwelt eine bedeutende Rolle zukommt[65]).

---

[62]) B. 27, 3485 (1894); 31, 1401 (1898).

[63]) A. 239, 27 (1887).

[64]) Terpene geben meist nur rotgelbe Färbungen.

[65]) Vor kurzem wurde in Erfahrung gebracht, daß Abel und Macht (J. of Pharm. and Exp. Therap. III, (1912)) durch „Melken" der Giftdrüsen einer großen, in Südamerika heimischen Kröte, der Bufo agua, einen dickflüssigen Saft erhielten, aus dem sie einen dem Bufotalin chemisch und physiologisch sehr ähnlichen, nach Schmelzpunkt, Löslichkeit, Zusammensetzung und Intensität der Lichtdrehung jedoch verschiedenen Stoff — das Bufagin — von der Zusammensetzung $C_{18}H_{24}O_4$ in kristallisierter Form isolieren konnten.

Außerdem hat Abel aus dem Drüsensekret auch Adrenalin in der erstaunlichen Menge von fast 7 % des ausfließenden Harzes erhalten. Bei Bufo vulgaris wurde bisher nach diesem Stoff noch nicht gefahndet.

Experimenteller Teil.

Darstellung der Cholsäure.

I. Verfahren für Sommergalle. Bekanntlich[66]) ist die Darstellung der Cholsäure aus Sommergalle schwieriger als aus Wintergalle. Im Sommer 1911 versagten alle bis dahin bekannten Verfahren zur Darstellung der Cholsäure[67]).

Es mußte eine neue Methode ausgearbeitet werden, die zum Ziele führte und darauf beruht, daß die in Äther-Alkohol gelösten Rohsäuren mit Wasser fraktioniert ausgeschüttelt werden. Cholsäure ist nämlich, wenigstens in unreinem Zustand, in Alkohol leicht, in Äther aber

---

[66]) Pregl M. 24, 33 (1903).

[67]) Literatur der Cholsäuredarstellung:

a) über die Glykocholsäure:

Platner A. 51, 105 (1844); J. pr. (I) 40, 129 (1847).
Verdeil A. 59, 311 (1846).
Strecker A. 65, 7 (1847).
Hüfner J. pr. (II.) 10, 267 (1874); 19, 307 (1879).
Bulnheim H. 25, 301 (1898).
Letsche H. 61, 219 (1909).

b) direkt aus der Galle:

Schotten H. 10, 191 (1886).
Mylius H. 12, 262 (1888).
Lassar-Cohn B. 25, 806 (1892); H. 17, 607 (1892); B. 26, 146 (1893).
Vahlen H. 21, 253 (1895).
Pregl Pflügers Archiv 71, 303, (1898); M. 24, 19 (1903).
Bondi und Müller H. 47, 501 (1906).
Langheld B. 41, 380 (1908).
Schenck H. 69, 386 (1910).
Hamarsten, Handbuch d. biochem. Arbeitsmethoden II, 655. — Nach Beginn dieser Arbeit: Pregl H. 74, 198 (1911).

schwer löslich. Je 5 Liter Galle, die man vom Münchner Schlachthaus frisch bezog, wurden mit 85 g KOH[68]) verseift und gerade bis zur Blaufärbung von Kongopapier mit HCl versetzt. Dabei fielen die Rohsäuren als schwärzliches Öl aus. Man wäscht mit Wasser, muß aber jede Emulsion vermeiden. Dann löst man in 300 ccm Alkohol, setzt 500 ccm Äther zu und schüttelt im geräumigen Scheidetrichter mit so viel Wasser, daß noch keine Ölabscheidung erfolgt. Man läßt stehen, bis die Trennung in zwei Schichten vollendet ist, die meistens schwer zu erkennen ist. Nun wird die untere Schicht abgelassen, die neuerdings mit Äther geschüttelt werden kann.

Der obern Schicht wird mit etwas Wasser fraktionsweise weiter Alkohol entzogen. Dabei findet im Scheidetrichter über Nacht reichliche Kristallisation statt. Zwar ist die Ausbeute nicht sehr gut, doch erhält man auf diese Weise sofort ein reines Produkt.

II. Winterverfahren. Im Winter gelang die Darstellung der Cholsäure auf sehr einfachem Wege: Je 8 Liter Galle werden mit 200 g Ätznatron[69]) 36 Stunden unter Rückfluß stark gekocht. Nach dem Erkalten wird mit überschüssiger Salzsäure ein zäher Kuchen erhalten, der mit Wasser durchgeknetet wird. Läßt man ihn darauf unter 300 ccm Alkohol stehen, so kristallisiert die ganze, dunkelgrün gefärbte Masse über Nacht. Sie ist steinhart geworden, wird zerkleinert, scharf abgesaugt, einmal mit Alkohol gewaschen und getrocknet.

Je 200 g dieser kristallisierten Rohsäuren werden in Anlehnung an ältere Verfahren mit Ammoniak gelöst, filtriert, in einer Pulverflasche mit 300—400 ccm Äther geschüttelt und unter Kühlung allmählich mit Essigsäure wieder gefällt. Man schüttelt nun wiederholt kräftig durch und erreicht nach 15stündigem Stehen vollständige Kristallisation der farblosen Masse, die scharf abgesaugt und gründlich mit Äther und darauf mit Wasser gewaschen wird. Die getrocknete und gepulverte Masse wird nun nach der Vorschrift von Langheld[70]) behandelt. So erreicht man eine vollständige Trennung der Cholsäure von Choleinsäure und Desoxycholsäure. Dieses Verfahren, das bei den Rohsäuren, wie auch Pregl und Buchtala[71]) fanden, versagt,

---

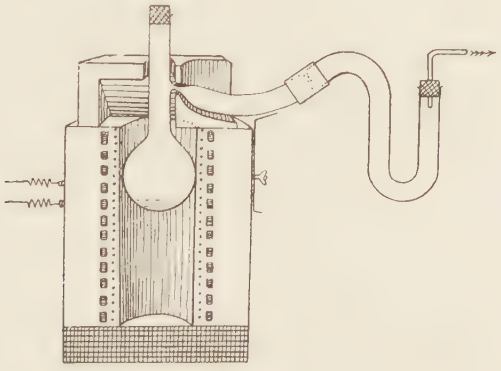
[68]) Pregl M. 24, 19 (1903).
[69]) Ein Überschuß an Ätznatron erwies sich als günstig.
[70]) B. 41, 378 (1908).
[71]) H. 74, 198 (1911).

bewährt sich bei diesem gereinigten Produkt vorzüglich; doch wurde statt mit wässriger Natronlauge mit methylalkoholischer gekocht. Das mit heißem Alkohol gewaschene Natriumcholat wurde dann in Wasser gelöst und die Cholsäure warm mit Essigsäure gefällt. Diese wurde getrocknet, mit Alkohol angerieben, erwärmt und kalt abgesaugt.

1200 g Rohsäure ergaben so ohne Berücksichtigung der Mutterlaugen 640 g reine Cholsäure.

Die Destillation der Cholsäure.

Zur Destillation wurde ein Anschützkolben von 200 ccm Inhalt verwendet, dessen Ansatzrohr etwa 50 g Substanz faßt und 4 cm hoch angesetzt ist. Das Ende des Ansatzes wird durch ein passendes Gummiband mit einem U-Rohr von gleichem Durchmesser dicht verbunden. Ein am anderen Ende mit Gummistopfen verschlossenes breites Rohr führt zur Sicherheitsflasche, zu Manometer und Wasserstrahlpumpe. Das U-Rohr steht in Eiswasser.



Diese Anordnung ist notwendig, weil bei der Destillation der Cholsäure, wie auch v. Fürth und Lenk[72]) beobachtet haben, ein weißer flüchtiger Körper sublimiert, der jedes enge Rohr sofort ver-

[72]) Bio. Z. 26, 40 (1910).

stopft. An den gekühlten Wänden des breiten U-Rohres setzt er sich in dichten Schwaden fest. Auch das entstehende Wasser wird hier kondensiert. Das elektrisch geheizte Luftbad besteht aus einem mit Nickeldraht umwickelten Eisenrohr. Ein starker Asbestzopf und Kieselguhr dienen als Schutz gegen zu starken Wärmeverlust. Die äußere Ofenwand besteht aus Blech. Der Hals des Kolbens wird bis über die Ansatzstelle der Vorlage durch zwei Backen geschützt, die aus einzelnen quergestellten und durch ein schwaches Metallband zusammengehaltenen Asbestplatten bestehen. Sie sind der Form des Halses und des Ansatzes entsprechend geschnitten und ermöglichen, da sie einzeln beweglich sind, ein dichtes Anlegen ans Glas. Die beiden Backen werden auf den Ofen einfach aufgesetzt. Dieser Ofen wurde an dem Stadtstrom angeschlossen, der durch Widerstände reguliert und mit einem Ampèremeter gemessen werden konnte.

Die zur Destillation verwendete Cholsäure wurde vorher durch Erhitzen im Vakuum bei der Temperatur des siedenden Wassers vom Alkohol befreit. Der Anschützkolben wurde mit je 40 g dieser alkoholfreien Cholsäure chargiert und mit einem Gummistopfen verschlossen. Die Verwendung eines Kapillarrohres hat sich als lästig und überflüssig erwiesen. Die Destillation, deren Gelingen von der genauen Befolgung dieser Vorschrift abhängt, sei in allen Einzelheiten beschrieben: Der Kolben wird in den Ofen eingesetzt und durch das breite Gummiband so mit dem U-Rohr verbunden, daß Glas an Glas stößt. Alle Gummiteile werden mit Glycerin gedichtet. Das Vakuum muß gerade 10—12 mm betragen. Das U-Rohr wird möglichst weit mit Eis umhüllt, die Backen werden aufgesetzt und der Ofen wird mit 5 A. geheizt. Sobald nun die Masse anfängt, sich vom Rande her zu blähen und die untere Hälfte des Kolbens von ihr ausgefüllt wird, nimmt man die Backen ab und bestreicht den obern Teil der Kolbenwand vorsichtig und dauernd mit einer Bunsenflamme. Ein Streifen Asbestpapier, der das Brennerrohr überragt, schließt die Gefahr des Anstoßens an den Kolben aus. Meist ist man so imstande, die nunmehr heftig schäumende braune zähe Masse niederzuhalten. — Es bildet sich das Sublimat —.

Manchmal droht die Masse aber in die Vorlage überzuspritzen. Dann ist man genötigt, das Vakuum augenblicklich zu verringern. Zu diesem Zwecke befindet sich an der der Pumpe vorgeschalteten Sicher-

heitsflasche ein Glashahn mit Vakuumschlauch. Verschließt man das Schlauchende mit dem Daumen und öffnet den Hahn, so ist man leicht imstande, durch Lüpfen des Daumens das Vakuum im Notfalle momentan und nur so weit aufzuheben als notwendig ist, um ein Überspritzen zu vermeiden. Nach 10 Minuten ist der Kolbeninhalt flüssig und die schäumende Masse fällt nach einer Periode der heftigsten Gasentwicklung fast augenblicklich zusammen und kommt in ruhiges Sieden. Auch wenn man ein Überschäumen verhindern konnte, ist es zweckmäßig, nunmehr das Vakuum auf möglichst kurze Zeit aufzuheben und das meist etwas gefärbte, bisher überdestillierte Produkt durch Neigen des vom U-Rohr losgelösten Kolbens aus der Vorlage in den Kolben zurückfließen zu lassen. Nun setzt man die Backen auf und hat nur darauf zu achten, daß das Vakuum nicht zurückgeht und die Badtemperatur nicht über 400° steigt. Meist genügt eine Stromintensität von 4 A.

Es ist von Vorteil, wenn man die Möglichkeit hat, mittels eines Pyrometers die Temperatur ablesen zu können. —

Im Kolben bleibt nur eine geringe Menge eines dunkel gefärbten Rückstandes zurück. Das Destillat wird in fast theoretischer Ausbeute gewonnen.

Destillat und Sublimat.

Das fast farblose, in Geruch und Konsistenz kolophoniumartige Harz ist in Alkali vollständig löslich.

Die Analyse ergab:

0,1330 g Substanz: 0,1120 g H_2O, 0,1330 g CO_2,

gefunden: 77,76 % C; 9,42 % H.

Auch Piettre hat bei der Analyse des Rohharzes ähnliche Zahlen erhalten[73]).

Da die Cholsäure

70,58 % C und 9,80 % H

und die Cholatrienkarbonsäure

---

[73]) C. r. 148, 178 (1909).

81,29 % C und 9,67 % H

hat, muß man annehmen, daß das Harz neben Cholatrienkarbonsäure auch noch sauerstoffreichere Säuren enthält.

Vor Beginn der Destillation entsteht ein geringer Beschlag auf den kalten Teilen des Apparates, der einen intensiven und unangenehmen Geruch hat und wahrscheinlich aus Fettsäuren besteht, die bekanntlich[74]) auch der reinen Cholsäure spurenweise hartnäckig anhaften. Von diesem Beschlag jedenfalls verschieden ist das Sublimat, das in wechselnden Mengen erst beim Einsetzen der Destillation entsteht. Es ist ein schneeweißes Produkt, das an der Luft leicht braun wird und verharzt; eine nähere Untersuchung des Körpers ist noch nicht ausgeführt worden, da erst sehr viele Destillationen das nur spärlich auftretende Produkt in genügender Menge liefern werden. Es ist eine starke Säure, die gegen Brom und $KMnO_4$ ungesättigt ist und aus Alkohol kristallisiert erhalten werden kann.

Cholatrienkarbonsäure.

Den geringen, im Kolben zurückgebliebenen dunklen Rückstand löst man in Chloroform. Auf das Ende des Ansatzrohrs setzt man einen kurzen Rückflußkühler und löst bei vertikalem Kühler und Ansatz mit 50 ccm Alkohol das Harz auf dem Wasserbad durch die Alkoholdämpfe und den kondensierten Alkohol. Wenn man die erkaltete und geimpfte alkoholische Lösung in Eis stellt, so erstarrt sie oft im Laufe von einer Stunde, stets aber im Laufe eines Tages zu einem dichten Kristallmagma. Durch zweimaliges Umkristallisieren erreicht die Substanz den Schmelzpunkt 163—164°. Unter dem Mikroskop sieht man einheitliche, flache schmale Tafeln.

0,1262 g Substanz: 0,3757 g CO_2; 0,1112 g H_2O.
0,1621 g Substanz: 0,4838 g CO_2; 0,1443 g H_2O.

$C_{24}H_{34}O_2$ Ber.: C 81,29 % H 9,67 %
Gef.: C 81,13; 81,40 % H 9,86; 9,96 %.

---

[74]) Kutscheroff B. 12, 2325 (1879).
Latschinoff B. 13, 1911 (1880).

Molekulargewicht:

I. 0,1892 g in 21,30 Eisessig. Depression = 0,099°.
II. 0,1617 g in 21,56 Eisessig. Depression = 0,080°.

Ber.: 354.
Gef.: I. 350; II. 366.

In Benzol wurden höhere Werte (552, 515) gefunden, wie dies bei Karbonsäuren[75]) infolge von Association oft beobachtet wird.

Titriert wurde die alkoholische Lösung der Säure mit $\frac{n}{10}$ Kalilauge. Indikator Phenolphtalein.

0,1814 g verbrauchten 4,9 ccm. Ber. 5,1 ccm.
0,1796 g verbrauchten 5,0 ccm. Ber. 5,07 ccm.

Eine 4,83 %ige CCl_3H-Lösung der Säure drehte im dm-Rohr um — 0,95°.

$$(\alpha)\ \frac{20}{D} = -19{,}7°.$$

Eigenschaften der Säure: In Wasser wenig, in Benzol mäßig, in Alkohol und Eisessig leidlich, in Äther, Aceton und Chloroform sehr leicht löslich. Ein Kristall färbt angefeuchtetes Lackmuspapier rot. Fein zerrieben ist die Substanz sehr leicht in $\frac{n}{10}$ Alkali löslich. Gegen $KMnO_4$ und Brom ist sie ungesättigt. Die Farbreaktionen sind im theoretischen Teil beschrieben worden. Bemerkenswert ist, daß die Liebermannsche Reaktion hier ein Maß für die Reinheit der Säure gibt. Je reiner sie ist, um so langsamer und deutlicher treten die Zwischenfärbungen auf. Unreine Substanz gibt nur Grünfärbung.

Die Choladienkarbonsäure.

1,8 g Cholatrienkarbonsäure werden in wenig Alkohol gelöst und mit etwas mehr als der berechneten Menge Kalilauge versetzt. Die Lösung wird mit Wasser auf 30 ccm verdünnt. Die Hydrierung erfolgt

---

[75]) H. Meyer: Anal. u. Konst. Erm. 1. Aufl. S. 261.

mit kolloidalem Palladium bei einem Wasserstoffdruck von 1 Atmosphäre. Das Produkt der Hydrierung wurde mit Salzsäure gefällt, in Äther aufgenommen und zweimal umkristallisiert. Dabei stieg der Schmelzpunkt von 165° auf 179°. Es ist zu bemerken, daß die Reduktion öfters auch nicht auf dieser Stufe stehen blieb, sondern gleich bis zur gesättigten Säure weiterging. Der Grund für dieses Verhalten ist noch nicht ermittelt worden.

Eine Mischprobe mit Cholatrienkarbonsäure schmolz bei 171°. Die beiden Säuren scheinen isomorph zu sein.

0,1592 g Substanz: 0,4714 g CO_2, 0,1441 g H_2O
$C_{24}H_{36}O_2$ Ber.: C 80,83 %, H 10,18 %
Gef.: C 80,76 %, H 10,13 %

Ein qualitativer Versuch ergab, daß auch diese Säure nach links dreht. Gegen $KMnO_4$ erscheint sie weniger ungesättigt als die dreifach ungesättigte. Von dieser ist sie durch die Farbreaktion mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure scharf unterschieden. In den übrigen Reaktionen gleicht sie ihr.

Die Cholankarbonsäure

kann auf zwei Arten, durch Hydrierung in der Kälte oder in der Wärme erhalten werden.

I. Kaltreduktion. 2 g Cholatrienkarbonsäure werden in 55 ccm Eisessig suspendiert und mit 0,5 g Palladiumschwarz in der Schüttelbirne[76]) hydriert. In der ersten Viertelstunde werden 200 ccm (50 % der Theorie) verbraucht. Gesamtverbrauch 430 ccm. Es entsteht eine feine Fällung, während die ursprünglichen derben Kristalle verschwinden. Durch Erwärmen des Eisessigs erhält man eine Lösung, die von Palladium abfiltriert wird und beim Erkalten Kristalle liefert, die nach dem Umkristallisieren bei 160° schmelzen. Die Mutterlauge liefert neue Mengen dieses Körpers.

---

[76]) Willstätter u. Hatt B. 45, 1472 (1912).

0,1666 g Substanz: 0,4878 g CO_2, 0,1690 g H_2O

$C_{24}H_{40}O_2$ Ber.: C 79,93 % H 11,19 %

Gef.: C 79,86 % H 11,35 %

Da diese Substanz zwar in Alkali- und in Alkohollösung, nicht aber in Eisessiglösung gegen $KMnO_4$ vollständig stabil war, wurde ihrer verdünnten Eisessiglösung solange $KMnO_4$-Lösung tropfenweise zugegeben, bis die Färbung bestehen blieb. Gewinnt man dieses also stabilisierte Produkt zurück, so widersteht es nun auch der Einwirkung des $KMnO_4$ in Eisessig geraume Zeit. Der Schmelzpunkt ändert sich dabei nicht.

II. Warmreduktion. 3 g Substanz wurden in der Birne mit 32 ccm Eisessig und Palladiummoor versetzt. Die Birne wurde im Innern eines großen Topfes geschüttelt, in dem so viel Wasser siedete, daß sie beständig von Wasserdämpfen umspült war. Diese Methode hat sich in vielen Fällen bewährt und läßt an Einfachheit nichts zu wünschen übrig. Die heiße Eisessiglösung nimmt sehr rasch Wasserstoff auf. Die Hydrierung ist nach längstens zwei Stunden vollendet.

Der Schmelzpunkt der umkristallisierten Substanz liegt bei 157,5°, ist also etwas tiefer als der der kaltreduzierten Säure.

0,1715 g Substanz: 0,5022 g CO_2, 0,1736 g H_2O

$C_{24}H_{40}O_2$ Ber.: C 79,93 %, H 11,19 %

Gef.: C 79,86 %, H 11,33 %.

Drehung der Cholankarbonsäure. 6,51 %ige Chloroformlösung. $\alpha = + 1{,}32^0$

$$(\alpha)\,\overset{20}{D} = + 20{,}3^0.$$

Stabilität gegen $KMnO_4$ in Eisessig wurde auf die bei der kaltreduzierten Säure beschriebenen Weise erreicht. Auch hier ändert sich der Schmelzpunkt nicht, doch muß man beide Säuren, die kaltreduzierte wie die warmreduzierte vorläufig wohl als identisch annehmen. Die stabilisierte Säure gibt keine von den Farbreaktionen der anderen, ungesättigten Säuren. In ihren Löslichkeitsverhältnissen ähnelt sie den ungesättigten Säuren. Eine Mischprobe von gemeinsam auskristallisierter Cholatrienkarbonsäure ($^2/_3$) und Cholankarbonsäure ($^1/_3$) schmolz bei

154°. Es scheinen also alle drei Säuren isomorph zu sein. Einige ihrer Eigenschaften sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt und mit denen der Cholsäure verglichen:

	Schmelzpunkt	konz. H_2SO_4	Essigsäureanhydrid-H_2SO_4	Brom in CCl_3H	Drehung	Geschmack
Cholsäure $C_{24}H_{40}O_5$	198°	gelbrot, grün fluoresc.	granatrot	—	+	bittersüß
Cholatrienkarbonsäure $C_{24}H_{34}O_2$	164°	orange, schwachgrün fluoresc.	gelb, rot, blau, grün ↓	farblos ↓ gelb	—	kein Geschmack
Choladienkarbonsäure $C_{24}H_{36}O_2$	170°	ebenso	blaurot	ebenso	—	ebenso
Cholankarbonsäure $C_{24}H_{40}O_2$	160°	farblos	farblos	farblos	+	ebenso

Es wurde auch ein orientierender Versuch zur Darstellung des der Cholankarbonsäure zugrunde liegenden Kohlenwasserstoffs $C_{23}H_{40}$ — des Cholans — gemacht: 1 g Cholankarbonsäure wurde im Vakuum mit Kalk destilliert. In der eisgekühlten Vorlage sammelte sich ein Öl, das mit Wasserdampf destillierbar war. Es riecht naphtalinartig und erstarrt leicht.

Abbauversuche der Cholatrienkarbonsäure.

Oxydiert man die alkalische Lösung mit feinst gepulvertem $KMnO_4$ in der Hitze (80°), so wird die Substanz, ohne daß ein Haltepunkt erreicht würde, nach und nach vollständig verbrannt. Wählt man eine Temperatur von 60° und setzt nach Bedarf je 20 ccm einer n-$KMnO_4$-Lösung zu, so erreicht man auch keine Stabilität. Auf diese Weise wurde ein Molekül Säure in 8 Wochen mit 22 g $KMnO_4$ oxydiert.

Einige in verschiedenen Stadien aufgearbeitete Portionen ergaben nur amorphe Produkte.

Versetzt man die alkalische Lösung der Cholatrienkarbonsäure mit soviel $KMnO_4$, als zur Oxydation einer Doppelbindung notwendig ist und läßt man die Temperatur dabei nicht über 6^0 steigen, so erhält man eine amorphe Substanz, die, über das Bariumsalz gereinigt, weiß ist und sich in Alkali orange löst.

Oxydiert man unter den gleichen Bedingungen mit der doppelten Menge $KMnO_4$-Lösung, so erhält man eine wieder fast farblose Alkalilösung.

Nimmt man aber die $2^1/_2$fache Menge, so tritt beim Ansäuern nur mehr eine schwache Trübung auf.

Die Aufarbeitung der oxydierten Lösungen geschah meist auf folgende Weise. Das MnO_2 wurde abgesaugt, die Lösung mit Schwefelsäure gerade mineralsauer gemacht und nun im Vakuum bei absteigendem Kühler solange zum Sieden erhitzt, bis das Destillat nicht mehr lackmussauer reagierte. Vor der Pumpe war eine Waschflasche mit suspendiertem Bariumkarbonat eingeschaltet. Der wässrige mineralsaure Kolbenrückstand wurde zwei Tage im Extraktionsapparat mit Äther extrahiert. Es wurde stets ein farbloses Harz gewonnen, das aber auf keinerlei Weise zur Kristallisation angeregt werden konnte.

Das Destillat wurde mit Bariumkarbonat versetzt, mit dem Inhalte der Waschflasche vereinigt, filtriert und die Lösung auf dem Wasserbade eingedampft. Die so erhaltene Menge Bariumacetat entsprach der Abspaltung von einem Molekül Essigsäure pro Cholatrienkarbonsäuremolekül. 3 g Substanz gaben 1,17 g Bariumacetat + 1 H_2O. Berechnet 1,15 g. Die freie Essigsäure wurde durch die Esterreaktion nachgewiesen. Bei einem zweiten Versuch wurde das Silbersalz dargestellt, dieses umkristallisiert und schließlich die Essigsäure mit Rhodanammonlösung titriert. 0,1125 g Substanz ergaben:

Ag. Ber.: 0,0727 g
Gef.: 0,0715 g.

Die Folgerungen wurden im theoretischen Teil gezogen.

Es wurde auch zweimal versucht, die Oxydation in Acetonlösung mittelst feinst gepulvertem $KMnO_4$ auszuführen. Wenn man nicht essig-

sauer hält, so geht die Oxydation überhaupt kaum vor sich. Die essigsaure Lösung verbraucht das $KMnO_4$, das mittels einer regulierbaren Streuvorrichtung eingestäubt wurde, nur langsam. Die willkürlich unterbrochene Oxydation lieferte ein amorphes Reaktionsprodukt.

Im folgenden sollen einige Oxydationsversuche, die mit verschiedenen Oxydationsmitteln ausgeführt wurden und nur amorphe Abbauprodukte oder geringe Mengen von Kristallen ergaben, ganz kurz in ihrer Anordnung besprochen werden:

Oxydation mit H_2O_2: 1 g Substanz wurde in 37 ccm Eisessig gelöst und zuerst 2,5 ccm, später je 1 ccm (im ganzen 10 ccm) Wasserstoffsuperoxyd zugegeben. Anfangs wurde bei 60°, dann auf dem Wasserbade 4 Tage erwärmt; darauf wurde im Vakuum bis fast zur Trockene abdestilliert und im Exsikkator über Kali getrocknet. Das Produkt wurde unter Äther fest. Ein Teil ergab durch langsames Verdunsten einer Eisessiglösung geringe Mengen harter, würfelartiger Kristalle. In ähnlicher Weise wurde auch eine alkalische wässerige Lösung der Säure oxydiert.

Oxydation mit N_2O_3: 1 g Substanz wurde in Benzol gelöst. Das über P_2O_5 getrocknete Gas wurde eine Stunde lang unter Eiskühlung eingeleitet und die grüne Lösung über Nacht in den Eisschrank gestellt. Da nichts ausfiel, wurde mit einer Kapillare das N_2O_3 abgesaugt. Dabei schied sich ein rötlich gefärbtes Harz aus, das in Alkali gelöst und mit Schwefelsäure gefällt wurde. Getrocknet bildete es ein rötliches Pulver, das beim Überhitzen verpuffte.

Oxydation mit Salpetersäure: Cholatrienkarbonsäure wurde zwei Tage lang in konz. Salpetersäure auf dem Wasserbad erwärmt, bis der Dampf über der Säure farblos war. Durch Verdünnung mit Wasser fiel eine Masse aus, die unter Äther fest wurde. Die abgesaugte wässerige Mutterlauge wurde frei stehen gelassen. Sie schied ein gelbliches Harz aus, das nach einem Monat zu kristallisieren begann.

Palladiumoxydation: 1 g Säure wurde drei Tage lang in 12 ccm Eisessig mit Sauerstoff und Palladium oxydiert. Verbrauch 160 ccm. Durch Verdünnen mit Wasser fiel eine Substanz aus, die sich in Schwefelsäure himbeerrot, in Alkali gelb löste, die Liebermannsche Farbreaktion gab und bei 100° unter Zersetzung schmolz.

Oxydation mit Chromsäure: 2 g Substanz wurden in 50 ccm Eisessig gelöst. Bei 60° wurde tropfenweise eine Lösung von

Chromsäure in gleichem Gewicht Wasser in dem Maße zugegeben, als die Chromsäure verbraucht wurde. Nachdem sie über Nacht nicht reduziert worden war, wurde unterbrochen. Es waren 3,5 g Chromsäure zugegeben worden. Der Eisessig wurde im Vakuum bei 60° abdestilliert, der Kolben in den Exsikkator gesetzt. Die zurückbleibende Masse wurde zuerst mit sehr verdünnter Schwefelsäure, darauf mit einigen Tropfen Eisessig behandelt und abgesaugt. Unter Äther wird sie fest und ist in Alkali mit gelber Farbe löslich. Bei einem zweiten Versuch wurde die Eisessiglösung zuerst in der Kälte mit einer ganz konzentrierten Lösung von Chromsäure in Eisessig versetzt und geschüttelt und dann erst bei 50° weiter oxydiert. So wurden allmählich etwa 9 g Chromsäure verbraucht. Das Chrom wurde mit Ammoniak fast vollständig entfernt, nachdem der Eisessig im Vakuum fast ganz abdestilliert worden war. Das Filtrat wurde mit Schwefelsäure angesäuert und im Flüssigkeitsextraktionsapparat drei Tage mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wurde über Kali getrocknet, mit Äther einigemale verrieben und dieser abgegossen. Sowohl das zurückbleibende als auch das aus dem Äther gewonnene Harz enthielt nach monatelangem Stehen eine geringe Menge schön ausgebildeter Kristalle.

Oxydation mit Brom: Setzt man einer alkalischen Lösung von 1 g Säure unter ständigem Umrühren und unter Kühlung so lange Brom zu, als es verbraucht wird und macht dann mineralsauer, so fällt ein voluminöses Produkt aus. Erwärmt man nun zum Sieden, so ändert der Körper sein Aussehen vollständig und wird feinkörnig. Da er aber halogenhaltig ist, wurde er nicht näher untersucht.

Die Oxydation der Cholankarbonsäure nach Windaus[77]) ergab kein befriedigendes Resultat. Aceton konnte nur spurenweise nachgewiesen werden.

Darstellung des kristallisierten Bufotalins.

Die Liebermannsche Reaktion. Nachdem Liebermann gefunden hatte, daß das Cholesterin[78]) ebenso wie das Cholestol mit Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure eine Farbreaktion gibt, die von gelb über

---

[77]) B. 42, 3773 (1909).
[78]) B. 18, 1804 (1885).

rot, violett und blau nach grün geht, wurde die gleiche Reaktion noch bei einer Reihe von Substanzen beobachtet, die aus Pflanzen isoliert werden konnten[79]). Andere verwandte Substanzen geben Färbungen, die mehr oder weniger vom typischen Verhalten abweichen[80]). Nachdem in dieser Arbeit die Cholsäure und ihre Derivate ebenfalls nach dieser Richtung hin geprüft worden waren, wurden auch einige Substanzen bekannter Konstitution untersucht. Die auftretenden Färbungen wechseln meist bei längerem Stehen die Farbe. Dasselbe erreicht man durch Zufügen eines Tropfens Wasser zur gefärbten Lösung[81]).

Anthracen, Phenanthren, Stilben — schwach gelb.
Furfurol grün-blaugrün; Furfuralkohol rötlich-grün.
Dihydronaphtalin rosa, Dicyclopentadien rostrot.
Piperinsäure oliv-rosa; Phenylbutadien weinrot;
Benzaldehyd gelblich mit starker gelber Fluoreszenz.
Safrol grün-rot; Isosafrol karminrot.
Eugenol ziegelrot.
Das Diphenylbutadien endlich und auch der Zimtaldehyd zeigen die typische Farbreaktion: rot-blau-violett-grün.

Während die Reaktion der Cholatrienkarbonsäure gegen Verunreinigungen sehr empfindlich ist, gibt das Bufotalin schon im amorphen, unreinen Zustand wunderschöne Farben[82]).

Verfahren zur Darstellung des Bufotalins.

Erste Methode: Zuerst wurde das Bufatolin nach folgender Methode kristallisiert erhalten: 10 g des schwach sauer reagierenden amorphen Produktes werden in einer Reibschale zuerst mit Petroläther verrieben und so von den letzten Resten der Fettsäuren befreit. Dann wird die anfangs unter Äther klebrige Masse portionenweise mit je 50 ccm Äther I behandelt. Die Fraktionen, die anfangs gelb und spä-

---

[79]) Czapek: Biochemie d. Pf. I. S. 166: Urson, Gentiol, Vitin. II. S. 686, Amyrin, (Urson), S. 689 Storesinol, S. 693 Abietinsäure, S. 695 Podokarpinsäure, S. 972 Carophylin.

[80]) Z. B. Liebermann B. 17, (1884), S. 869 Chinovasäure, S. 1885 Sylvin- und Pimarsäure, S. 1886 Siambenzoesäure.

[81]) Gintl M. 14, 260 (1893).

[82]) Digitalin, Cantharidin und Santonin geben keine Färbungen.

ter farblos sind, enthalten hauptsächlich die Fette. Läßt man diese Fraktionen freiwillig verdunsten, so scheiden sie zu Beginn kristallisiertes Bufotalin aus. Das durch die Ätherbehandlung mürbe und bröckelig gewordene Produkt wird in wenig Alkohol gelöst und mit so viel Äther I versetzt, bis ein geringer dunkler Niederschlag entsteht, von dem abfiltriert wird. Die Äther-Alkohollösung wird über Wasser dem freiwilligen Verdunsten überlassen. So erhält man das Bufotalin in feinen Kristallen. Auch aus dem Wasser kann durch Aussalzen oder Ausäthern noch etwas Substanz gewonnen werden. Man kann auch das bröckelige Produkt direkt aus heißem Alkohol kristallisiert erhalten, doch bleibt in der Mutterlauge viel Substanz zurück.

Zweite Methode: Das zur Darstellung von Cholsäure aus Sommergalle ausgearbeitete Verfahren (s. S. 33), ist auch beim Bufotalin anwendbar. Es ist von dem eben beschriebenen wesentlich nicht verschieden, führt aber ohne viele Operationen rasch zum Ziel, was deshalb angenehm ist, weil das Bufotalin Hautreizungen und Nießkrämpfe hervorruft.

20 g des amorphen Präparates werden in 20 ccm abs. Alkohol gelöst, durch allmähliche Zugabe von Äther von braunen schmierigen Verunreinigungen befreit. Man fügt solange Äther zu, bis die Lösung hellgelb geworden ist und schätzungsweise etwa 2 g harziger Substanz ausgefällt sind. Die klare Lösung wird hierauf in einen Scheidetrichter abgegossen und nach und nach mit Wasser versetzt. Dabei trübt sie sich, jedoch soll keine ölige Abscheidung erfolgen. Ist dieser Zustand erreicht, so beginnt nach einigen Stunden gewöhnlich das reine Bufotalin aus der Ätherlösung auszukristallisieren; die Kristallisation wird durch Reiben beschleunigt. Man läßt nun einen Tag stehen, gießt die untere wässerige Schicht ab und setzt die Operation des Alkoholentziehens durch weiteren allmählichen Zusatz von Wasser in gleicher Weise fort. Es gelingt so leicht, fast $^2/_3$ des Rohproduktes in kristallisierter Form zu erhalten. Durch Umkristallisieren aus wenig Alkohol wird die Substanz in farblosen feinen Prismen gewonnen. Die Bufotalinrückstände, die nach diesem Verfahren erhalten werden, können zweckmäßig nach Methode I aufgearbeitet werden.

Bufotalein. Läßt man das zuerst abgelassene Wasser offen stehen, so kristallisiert neben Bufotalin an den Glaswänden in geringer Menge ein Körper in isolierten harten würfelförmigen Kristallen aus, der in heißem Alkohol schwer löslich ist und aus diesem in dreiecki-

gen Tafeln kristallisiert. Er bildet ein schweres Pulver und zersetzt sich bei 171° unter Gasentwicklung. Die Liebermannsche Farbreaktion gibt er nur sehr schwach, wobei die einzelnen Farbphasen sehr rasch durchlaufen werden. Der Körper ist stickstofffrei, verhält sich gegen konz. Salzsäure genau wie das Bufotalin und wurde Bufotalein genannt. Eine Mikroanalyse nach F. Pregl, die, wie alle folgenden Mikroanalysen, von Herrn Dr. Hans Lieb in Innsbruck ausgeführt wurde, ergab:

4,25 mg Substanz : CO_2 : 10,555; H_2O : 3,005 mg
7,91 % H 67,73 % C.

Das Bufotalin zeigt folgende Eigenschaften: Es kristallisiert aus Alkohol und Äther in länglichen Tafeln, ist in Chloroform, Eisessig, Alkohol, Aceton leicht; in Äther, Benzol schwer; in Petroläther und Wasser sehr wenig löslich. Es zeigt die Liebermann'sche Reaktion. Die blaue Phase ist lange ($^1/_4$ Stunde) beständig. Mit konz. Schwefelsäure tritt zuerst eine orangerote Farbe auf, die allmählich tief rot wird und grüne Fluoreszenz zeigt[83]). Bei 148° zersetzt es sich unter starkem Schäumen. Es ist stickstofffrei.

I. 0,1619 g Substanz gaben 0,4083 g CO_2 und 0,1253 g H_2O.
II. 0,1206 g Substanz gaben 0,3034 g CO_2 und 0,0915 g H_2O.
$C_{16}H_{24}O_4$ Ber.: C 68,53 % H 8,63 %
Gef.: C 68,78 % und 68,61 % H 8,66 % und 8,49 %.

Molekulargewicht:

I. 0,1481 g in 23,93 g Eisessig. Depression 0,082°.
II. 0,1572 g in 20,89 g Eisessig. Depression 0,109°.
III. 0,2030 g in 18,66 g Phenol. Depression 0,322°.
Ber.: 280. Gef.: I. 294; II. 269; III. 247.

Das Bufotalin ist optisch aktiv.

0,6844 g in Chloroform drehen im dm-Rohr (10 ccm) um + 0,37°

$$(\alpha)\ {}^{20}_{D} = +\ 5{,}4^{0}.$$

Das Bufotalin reagiert neutral und wird von wässerigem Alkali nicht gelöst. Es gibt keine Eisenchloridreaktion. Von $KMnO_4$ wird es langsam angegriffen. Versetzt man die alkoholische Lösung mit einigen Tropfen methylalkoholischen Kalis, so entsteht fast momentan schon in der Kälte eine Säure von stark ungesättigtem Charakter. Mit

[83]) Nicht ganz reine Substanz gibt eine bräunliche Färbung.

salzsaurem Hydroxylamin und Natriumacetat in alkoholischer Lösung reagiert das Bufotalin nicht. Ebensowenig mit Benzoylchlorid in Pyridinlösung. Dagegen wird es durch Acetylchlorid in Pyridinlösung und durch Essigsäureanhydrid auch ohne Natriumacetat in derselben Weise angegriffen. In konz. Salzsäure löst sich das Bufotalin unter Bildung eines chlorfreien, doppelt ungesättigten Körpers.

Die drei zuletzt angeführten Reaktionen werden im folgenden näher besprochen.

Bufotalsäure und Bufotaliensäure.

Bufotalsäure. Durch Versetzen einer alkoholischen Bufotalinlösung mit einigen Tropfen methylalkoholischen Kalis und durch kurzes Stehenlassen dieser Lösung in der Kälte oder durch einmaliges Aufkochen erhält man eine Lösung, aus der durch Verdünnen mit Wasser keine Fällung mehr entsteht. Macht man nun mineralsauer, so bildet sich eine weiße amorphe Fällung. Es ist eine Säure, die fein zerrieben in $\frac{n}{10}$ KOH leicht löslich ist. Gegen $KMnO_4$ zeigt sie sich stark ungesättigt. Beim Reiben wird sie sehr stark elektrisch; im Vakuum ist sie nur schwer konstant zu bekommen. Es ist trotz vieler Versuche nicht gelungen, die Säure zur Kristallisation zu bringen. Sie ist sehr leicht löslich in Alkohol, Eisessig, weniger leicht in Äther, unlöslich in Wasser.

Nimmt man eine Umlagerung des Laktons zur ungesättigten Säure an, so würde diese Säure, wie das Bufotalin, 68,53 % C und 8,63 % H haben müssen. Die Mikroanalyse ergab aber:

I. 67,02 % C und 8,38 % H,
II. 67,22 % C und 8,45 % H.

Es erscheint deshalb wahrscheinlich, daß zum Teil auch Oxysäure gebildet wird (C 64,38 %, H 8,79 %). Dafür spricht auch die Tatsache, daß die Säure zu etwa $^1/_3$ in Chloroform löslich ist. Der Rest ist nicht mit Chloroform in Lösung zu bekommen. Eine ähnliche Erscheinung zeigt sich bei Behandlung der Säure mit Äther.

Bufotaliensäure. In konz. Salzsäure löst sich die Bufotalsäure auf und färbt diese Lösung allmählich rot bis rot-violett. Gleichzeitig tritt wie beim Bufotalin Trübung auf. Die durch Verdünnen

mit Wasser so gewonnene amorphe gelbe Säure, die Bufotaliensäure, ist zweifellos der Erreger der auftretenden Färbung. Denn sie gibt mit konz. Salzsäure versetzt sofort die Färbung, die durch Zusatz von einem Wassertropfen verschwindet. Die Alkalilösung der Bufotaliensäure ist stärker gefärbt als die freie Säure.

Bufotalien, Bufotaliensäure und Acetobufotalien.

Bufotalien. Man löst fein zerriebenes reines Bufotalin in wenig konz. Salzsäure, so daß eine klare Lösung entsteht und verreibt das allmählich ausfallende stark gefärbte schmierige Harz dauernd mit einem Glasstab. Die Lösung bleibt farblos. Nach 10—15 Minuten verdünnt man mit Eis und darauf mit Wasser, saugt das grünlich gefärbte bröckelige Produkt ab und wäscht mit Wasser nach. Die eingedampfte Mutterlauge enthält nur mehr Spuren organischer Substanz. Somit ist es ausgeschlossen, daß das Bufotalin ein Glucosid ist. Die im Exsikkator vollständig getrocknete Masse löst man in möglichst wenig Alkohol klar auf. Reibt man mit dem Glasstabe, so tritt sofort eine feine gelbe kristallisierte Fällung auf, die sich sichtlich vermehrt und die Lösung schließlich zum Gestehen bringt. Man saugt ab, wäscht mit möglichst wenig Alkohol gründlich nach und erhält so ein schön kristallisiertes gelbes Pulver. War das Ausgangsmaterial rein, so ist die Ausbeute sehr befriedigend und beträgt etwa $^2/_3$ der Theorie. Aus heißem Alkohol kristallisiert dieser Körper in schönen gelben Tafeln. Bei 219° schmilzt er zu einer braunen klaren Flüssigkeit. Er enthält kein Chlor.

Mikroanalyse nach Pregl:

3,675 mg Substanz 2,81 mg H_2O; 10,58 mg CO_2.

$C_{16}H_{20}O_2$ Ber.: C 78,64 %, H 8,26 %,

Gef.: C 78,52 %, H 8,56 %.

Es sind also durch die konz. Salzsäure zwei Moleküle Wasser aus dem Bufotalin abgespalten worden. Dieser Körper wurde Bufotalien genannt. Gegen Essigsäureanhydrid-Schwefelsäure und gegen Schwefelsäure allein verhält es sich genau wie das Bufotalin. Durch Hydrierung mit Palladium wird die alkoholische Lösung farblos. Das gewonnene

Produkt kristallisiert leider auf keine Weise[84]). Es ist weiß und gibt keine Farbreaktion mehr. Mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure tritt nach einiger Zeit nur schwache Grünfärbung auf.

Bufotaliensäure. Löst man Bufotalien in Alkohol, setzt einige Tropfen methylalkoholischen Kalis zu und läßt einige Zeit stehen, so erhält man nach dem Verdünnen mit Wasser durch Fällen mit Mineralsäure eine gelbe Säure, die vollständig der aus Bufotalsäure durch konz. Salzsäure gewonnenen Bufotaliensäure gleicht.

Acetobufotalien. Versetzt man das Bufotalien mit Essigsäureanhydrid und erwärmt 2 Stunden auf dem Wasserbad, verdünnt mit Wasser und läßt über Nacht stehen, saugt ab, trocknet und löst in wenig Alkohol, so kristallisiert beim Reiben, wie dies beim Bufotalien beschrieben wurde, ein gelber Körper aus. Aus heißem Alkohol kristallisiert er bei langsamem Erkalten in glänzenden Blättchen, die sich zu Rosetten gruppieren. Dieser Körper wurde zwei Tage im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet.

Mikroanalyse nach Pregl:

4,356 mg Substanz 2,975 mg H_2O, 12,10 mg CO_2.
$C_{18}H_{22}O_3$ Ber.: C 75,48 %, H 7,75 %,
Gef.: C 75,76 %, H 7,64 %.

Bei 184° schmilzt das Acetobufotalien zu einer dunkelroten Flüssigkeit. Farbreaktionen wie beim Bufotalin. Nach seiner Zusammenstellung $C_{16}H_{20}O_2 + CH_3COOH - H_2O$ erhielt er seinen Namen.

Mit methylalkoholischem Kali zersetzt gibt auch er eine gelbe amorphe Säure, die konz. Salzsäure sofort rot färbt.

Diacetylbufotalinäther und Acetobufotalien.

Wenn man das Bufotalin als Lakton auffaßt, das durch methylalkoholisches Kali zur ungesättigten Bufotalsäure aufgespalten wird, so bleibt nur noch die Natur der beiden anderen Sauerstoffatome des Moleküls $C_{16}H_{24}O_4$ zu untersuchen. Schon die Abspaltung von zwei Wasser durch konz. Salzsäure, die Bildung des Bufotaliens, macht es

[84]) Auch Abel und Macht erhalten bei der Hydrierung von Bufagin nur ein amorphes Hydrierungsprodukt. J. of Pharm. and exp. Therap. III, 319 (1912).

wahrscheinlich, daß zwei Sauerstoffatome des Bufotalinmoleküls in Form von OH-Gruppen vorhanden sind. Die Einwirkung von salzsaurem Hydroxylamin und Natriumacetat in alkoholischer Lösung blieb auch tatsächlich erfolglos. Allerdings konnte auch aus einer mit Benzoylchlorid versetzten und erhitzten Pyridinlösung das Bufotalin unverändert zurückgewonnen werden. Doch wirken Acetylchlorid in Pyridinlösung und Essigsäureanhydrid allein schon in gleicher Weise acetylierend: man überschichtet reines gepulvertes Bufotalin mit Essigsäureanhydrid und erhitzt bei aufgesetztem Kühlrohr zwei Stunden in siedendem Wasser. Zuerst tritt Lösung ein, nach einer Stunde aber beginnt ein weißer Körper auszufallen, der sich im Laufe der zweiten Stunde vermehrt und nach dem Erkalten den Rohrinhalt zum Gestehen bringt. Man kann nun entweder absaugen und die Mutterlauge, die meist etwas gefärbt ist, getrennt aufarbeiten oder sofort mit Wasser verdünnen und über Nacht stehen lassen. Dann hat sich das ölige Essigsäureanhydrid in Essigsäure verwandelt. Man saugt den festen amorphen Körper ab, wäscht mit Wasser nach und trocknet im Exsikkator über Kali und Schwefelsäure.

Durch zweimaliges Umkristallisieren aus Alkohol erhält man einen weißen neutralen Körper, der in glänzenden Blättchen kristallisiert und erst bei 254° zu einer rötlichen Flüssigkeit schmilzt. Von $KMnO_4$ wird er nur langsam angegriffen und gleicht darin dem Bufotalin. In dem mit der Wasserstrahlpumpe evakuierten Exsikkator schien die Substanz konstant zu bleiben. Später aber hat es sich gezeigt, daß der Schmelzpunkt durch längeres Verweilen der Substanz im Vakuum allmählich auf 248° sinkt und sehr unscharf wird. Ein aus Benzol umkristallisiertes Produkt schmolz sofort unscharf und verlor im Hochvakuum durch Erhitzen mit siedendem Alkohol im Laufe von 12 Tagen ganz allmählich etwa 3 % seines Gewichtes. Nach dieser Zeit ergab eine Schmelzpunktbestimmung, daß sich die Substanz schon bei 230° braun färbte und ganz unscharf schmolz. Ein Teil wurde aus Alkohol umkristallisiert und zeigte wieder den alten Schmelzpunkt von 254°. Auch das durch Eindampfen der Mutterlauge erhaltene Produkt schmolz bei 253°. Es scheint also, daß der Körper geringe Mengen des Lösungsmittels äußerst hartnäckig festhält. Dadurch werden die Resultate der vorher gemachten Molekulargewichtsbestimmungen, die in Eisessig (I, II, III) und Phenol (IV) ausgeführt wurden, gegenstandslos: I 429, II 446, III 409, IV 450.

Um zu prüfen, ob und wieviel Essigsäurereste ins Bufotalinmolekül eingetreten wären, wurden 0,09 g des Körpers kurz mit alkoholischem Kali gekocht, in Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure angesäuert[85]) und bei absteigendem Kühler und gelinder Erwärmung wurde nun solange Wasser abdestilliert, bis es neutral reagierte. Vor die Pumpe war eine Waschflasche mit suspendiertem Bariumkarbonat eingeschaltet. Das Destillat wurde nun mit dem Inhalt der Waschflasche vereinigt, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wog 0,05 g. Berechnet für den Eintritt eines Acetyls ins Molekül: 0,04 g Bariumacetat + 1 H_2O. Durch Ansäuren und durch die Esterreaktion konnte die Essigsäure unzweifelhaft nachgewiesen werden. Auch die Analyse bestätigt den Eintritt eines Acetylrestes in jedes Bufotalinmolekül.

Wenn man dem Resultat einer Makroverbrennung (I) und einer Mikroverbrennung nach Pregl (II) doch noch einigermaßen trauen darf, nachdem später festgestellt worden war, daß die Substanz, wie oben erwähnt, Spuren von Alkohol festhält, so ergibt sich, daß die eine Woche lang im Exsikkator getrocknete Analysensubstanz ein Diacetylbufotalinäther war, der etwa noch ein Gewichtsprozent Alkohol enthielt.

I. 0,1021 g Substanz: 0,2565 g CO_2, 0,0732 g H_2O.
II. 4,182 mg Substanz: 10,53 mg CO_2, 3,10 mg H_2O.
Gef.: C I 68,52 %, II 68,67 %; H I 8,02 %, II 8,30 %.
$C_{36}H_{50}O_9$ Ber.: C 68,96 %, H 8,05 %, und für ein Produkt mit 1% Alkohol C 68,78 %, H 8,09 %.

Acetobufotalien. Der Diacetylbufotalinäther, der die gleichen Farbreaktionen gibt, wie das Bufotalin, verhält sich auch gegen konzentrierte Salzsäure wie dieses. Der gelbe, schön kristallisierende Körper, den man auf diesem Wege erhält, ist mit dem aus Bufotalien und Essigsäureanhydrid erhaltenen Acetobufotalien identisch.

---

[85]) Dabei fällt eine Substanz aus, die sich vollständig wie die Bufotalsäure verhält.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Josef Weil, geboren am 8. August 1888 zu Prag in Böhmen, besuchte nach den 5 Volksschulklassen das deutsche 8-klassige humanistische Gymnasium in den Prager Weinbergen und verließ es nach Ablegung der Reifeprüfung im Juli 1907. Die ersten 2 Semester studierte ich Chemie an der deutschen Prager Universität, seit dem Wintersemester 1908/09 an der Münchner Universität. Hier bestand ich im April 1910 das Verbandsexamen, im Juni 1911 das Doktorandum. Seit dem 1. Oktober 1913 bin ich Assistent am chemischen Laboratorium des Staates.

München, den 4. Dezember 1913.